

Die Oxydationsprodukte des Arginins.

II. Mittheilung.

Von

Fr. Kutscher.

(Aus dem physiologischen Institut zu Marburg.)

(Der Redaction zugegangen am 8. April 1901.)

In einer kürzlich veröffentlichten Arbeit haben Bénech¹⁾ und ich gezeigt, dass man durch vorsichtige Oxydation des Arginins aus demselben Guanidin gewinnen kann. Um auch die übrigen krystallinischen Oxydationsprodukte des Arginins zu isoliren, nahm ich eine grössere Menge Arginincarbonat, das mir Herr Professor Kossel zur Verfügung stellte, in Angriff. Das Verfahren, welches schliesslich zu einer annähernd vollkommenen Auftheilung der krystallinischen Oxydationsprodukte des Arginins führte, gestaltete sich wie folgt:

12 g lufttrockenes kohlsaures Arginin wurden in 250 cem. Wasser gelöst, auf 25° C. erwärmt und langsam mit 36 g Baryumpermanganat, die in 500 cem. Wasser gelöst waren, versetzt. Dabei erwärmte sich das Reaktionsgemisch auf 37° C. Die ganze Masse wurde darauf in einen auf 40° C. eingestellten Thermostaten gesetzt. Nach ca. 6 Stunden war vollkommene Entfärbung der Flüssigkeit eingetreten. Dieselbe wurde nun vom Manganschlamm abgesaugt, der Manganniederschlag sorgfältig mit heissem Wasser ausgewaschen. Das Filtrat vom Manganniederschlag wurde mit den Waschwässern vereinigt, in die Flüssigkeit Kohlensäure eingeleitet und sie darnach eingengt, bis ihr Volumen ca. 300 cem. betrug. Sie wurde jetzt mit Schwefelsäure stark angesäuert, darauf mit Phosphorwolframsäure vorsichtig ausgefällt. Der erhaltene Niederschlag

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXII. S. 278.

wurde nach 24 Stunden abgesaugt und mit 5%iger Schwefelsäure kurz ausgewaschen. Ich will zunächst die Resultate, die die Verarbeitung der Phosphorwolframfällung, dann diejenigen, welche das Filtrat vom Phosphorwolframniederschlag ergab, besprechen.

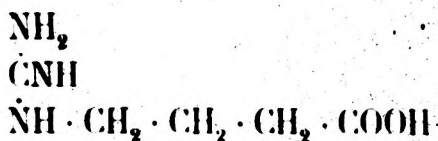
Phosphorwolframniederschlag.

Der Phosphorwolframniederschlag wurde in Wasser aufgeschwemmt und mit Baryt zersetzt. Vom phosphorwolframsauren Baryt wurde abgesaugt, das Filtrat vom überschüssigen Baryt durch Kohlensäure befreit, stark eingeengt und mit Schwefelsäure neutralisirt. Dabei schied sich neben etwas schwefelsaurem Baryt in dicken, weissen Flocken eine organische Substanz ab. Dieselbe wurde von mir, da die Ausbeute zu gering war, nicht näher untersucht. Vom schwefelsauren Baryt etc. wurde abfiltrirt. Das neue Filtrat wurde darauf mit kaltgesättigter Natriumpikratlösung gefällt. Das reichlich abgeschiedene Guanidinpikrat (es wurden 5 g Guanidinpikrat gewonnen) wurde nach 48 Stunden abgesaugt und mit kaltem Wasser gewaschen. ¹⁾

Das Filtrat vom Guanidinpikrat wurde mit Schwefelsäure stark angesäuert und mit Phosphorwolframsäure gefällt. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit 5%iger Schwefelsäure ausgewaschen, in Wasser aufgeschwemmt und mit Baryt zersetzt. Der phosphorwolframsaure Baryt wurde abgesaugt, in der Flüssigkeit der überschüssige Baryt durch Kohlensäure niedergeschlagen. Vom kohlsauren Baryt wurde abfiltrirt, das Filtrat stark eingeengt. Es setzte sich sehr bald am Boden der Krystallisationsschaale eine feste Krystallkruste ab. Die überstehende Mutterlauge wurde abgegossen, die Krystallmasse in heissem Wasser gelöst und mit etwas Thierkohle entfärbt. Nach gehöriger Concentration schieden sich jetzt aus der entfärbten Flüssigkeit kleine stark glänzende, zu Drusen vereinigte Krystalle ab. Dieselben waren in heissem Wasser leicht, in kaltem dagegen schwer löslich, in Alkohol unlöslich. Schon an der Luft verloren sie ihren Glanz. Im Exsiccator über Schwefelsäure zerfielen sie zu weissem Pulver. Bei 100° C.

¹⁾ Siehe Emich. Monatshefte für Chemie, Bd. 12.

gaben sie im Trockenschrank lebhaft Wasser ab. Gegen Lackmus reagierten sie schwach alkalisch. Sie wurden, wie die Analyse ergab, von der bisher nicht bekannten γ -Guanidinbuttersäure



gebildet.

Da das Trocknen der freien Guanidinbuttersäure Schwierigkeiten machte, benutzte ich für die Analyse ihre Verbindung mit Salzsäure. Um diese darzustellen, hat man nur nöthig, die Guanidinbuttersäure in etwas heisse concentrirte Salzsäure einzutragen. Beim Erkalten krystallisirt sofort die Verbindung $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_2 \cdot \text{HCl}$ aus. Dieselbe ist in Wasser leicht, in kalter verdünnter, sowie concentrirter Salzsäure dagegen schwer löslich, in Alkohol unlöslich. Sie schmilzt bei 184°C . (uncorrig.) scheinbar unzersetzt, denn die Schmelze erstarrt nach dem Erkalten wieder zu einer Krystallmasse, deren Schmelzpunkt unverändert geblieben ist. Die im Exsiccator über Schwefelsäure vorgetrocknete Substanz verlor beim Erwärmen auf 130°C . nichts an Gewicht.

0.1712 g Substanz lieferten mit Kupferoxyd gemischt bei der Verbrennung 0.2098 g CO_2 und 0.1053 g H_2O ,

0.1527 g Substanz gaben bei der volumetrischen Stickstoffbestimmung 30.8 ccm. N, T. = 12°C ., Ba. = 750. Sperrflüssigkeit 25° Kalilauge,

0.1041 g Substanz gaben 0.0825 g AgCl .

Für $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_2 \cdot \text{HCl}$:

Berechnet:	Gefunden:
C = 33.06 %	C = 33.44 %
H = 6.61 %	H = 6.88 %
N = 23.14 %	N = 23.73 %
Cl = 19.56 %	Cl = 19.60 %

Die Ausbeute an Guanidinbuttersäure hatte ca. 1 g betragen.

Filtrat vom Phosphorwolframniederschlag.

Das Filtrat vom ersten Phosphorwolframniederschlag wurde mit Baryt von der überschüssigen Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure befreit, der überschüssige Baryt genau durch Schwefelsäure entfernt. Darnach wurden die vom phos-

phorwolframsauren Baryt etc. abfiltrirten Flüssigkeitsmassen stark concentrirt zur Krystallisation aufgestellt. Es schieden sich bald glänzende Blättchen ab, die von der geringen Mutterlauge abgesaugt und nach der Entfärbung durch Thierkohle aus Wasser umkrystallisirt wurden. Analyse sowie Schmelzpunktbestimmung erwiesen die Krystalle als Aethylenbernsteinsäure.

0,1389 g Substanz gaben bei der Verbrennung 0,2066 g CO_2 und 0,063 g H_2O .

Für $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4$:

Berechnet:	Gefunden:
C = 40,68 %	C = 40,58 %
H = 5,08 %	H = 5,07 %

Ein Theil der Krystalle wurde in das Silbersalz übergeführt. Es gaben 0,1294 g Silbersalz 0,0838 g Ag.

Für $\text{C}_4\text{H}_4\text{Ag}_2\text{O}_4$:

Berechnet:	Gefunden:
Ag = 65,02 %	Ag = 64,76 %

Die Krystalle der freien Säure schmolzen bei 183°C . (uncorr.). Ein von Kahlbaum bezogenes Präparat von Aethylenbernsteinsäure schmolz am gleichen Thermometer unter denselben Bedingungen bei 185°C . Auch die qualitativen Reactionen wie Sublimirbarkeit etc. stimmten mit jenen der Aethylenbernsteinsäure vollkommen überein.

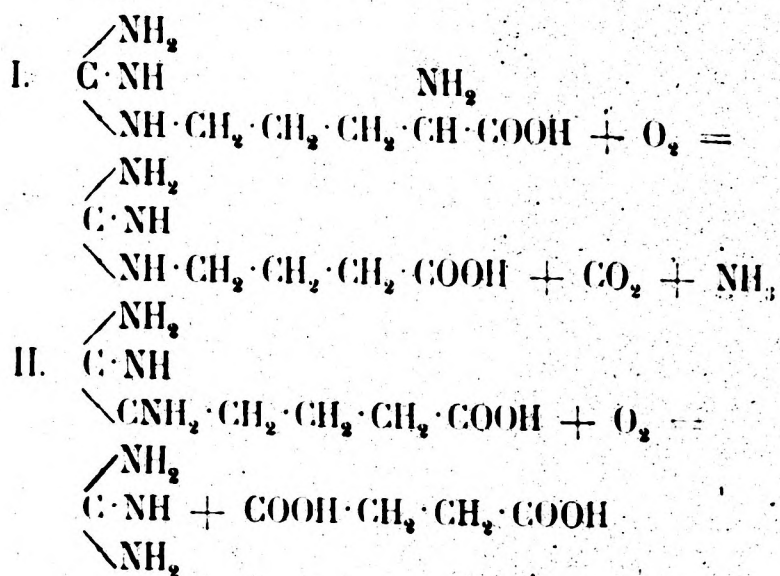
Die Ausbeute an Bernsteinsäure hatte nur ca. 0,8 g betragen. In Wirklichkeit bildet sich bei der Oxydation des Arginins durch Baryumpermanganat jedenfalls weit mehr Bernsteinsäure, als von mir isolirt wurde, doch muss der grösste Theil derselben sofort in Form von bernsteinsaurem Baryt niedergeschlagen werden und im Manganschamm sowie den späteren Barytniederschlägen stecken bleiben. Es hat demnach wahrscheinlich die Unvollkommenheit der von mir benutzten Oxydationsmethode es verschuldet, dass die Menge der gewonnenen Bernsteinsäure weit hinter der theoretisch berechneten zurückgeblieben ist.

Die Mutterlauge von der Bernsteinsäure setzte nach einiger Zeit noch eine geringe Menge einer in langen Nadeln krystallisirenden Substanz ab. Die Krystalle waren in kaltem Wasser schwer löslich, in Alkohol vollkommen unlöslich. Um

sie zu identificiren, reichte ihre Menge nicht hin. Nach ihrer Abscheidung verblieb eine geringe schmierige Mutterlauge, die nicht weiter zugänglich war.

Die von mir bei der Oxydation des Arginins erhaltenen Resultate bringen eine vollkommene Bestätigung der von Schultze, Winterstein¹⁾ und Ellinger²⁾ über die Constitution des Arginins bezw. Ornithins ausgesprochenen Ansichten. Namentlich beseitigen sie den Einwand, den man gegen die originelle Methode Ellinger's³⁾ erheben kann, nämlich, dass bei seinen Arbeiten das Tetramethyldiamin aus dem Ornithin nicht durch Spaltung entstanden, sondern synthetisch von den Bakterien dargestellt worden ist. Weiterhin geben sie natürlich den Arbeiten Ellinger's bezüglich der Constitution des Lysins eine starke Stütze.

Die Oxydation des Arginins muss sich, darauf deutet die Auffindung der Guanidinbuttersäure, in zwei Phasen vollziehen, deren erste zur Bildung der Guanidinbuttersäure führt, die dann weiter in Guanidin und Bernsteinsäure zerfällt. Diese Vorgänge lassen sich in folgenden Formeln ausdrücken:



Die Atomgruppierung in der Guanidinbuttersäure ergibt sich ohne Weiteres, sobald man die krystallinischen End-

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXVI, S. 1 und Ber. der deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 30, S. 2879 und Bd. 32, S. 3191.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXIX, S. 334 und Ber. der deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 31, S. 3183 und Bd. 32, S. 3542.

3) l. c.

produkte der Oxydation des Arginins, das Guanidin und die Aethylenbernsteinsäure mit in die Betrachtung zieht.

Das Auffinden der Bernsteinsäure unter den Oxydationsprodukten des Arginins gestattet weiterhin, einer Frage näher zu treten, die bereits von Gorup-Besanez aufgeworfen worden ist. Gorup-Besanez¹⁾ hat bekanntlich die Bernsteinsäure in der Thymusdrüse des Kalbes, in der Thyreoidea und Milz des Rindes nachgewiesen. An diesen Befund knüpft er folgende Betrachtungen.²⁾ «Nach diesen Erwägungen dürfte es wohl gerechtfertigt sein, die Bildung der Bernsteinsäure im Laufe der Untersuchung zu bezweifeln und vielmehr anzunehmen, dass diese Säure constant oder in gewissen Functionsphasen ein Bestandtheil der Milz, Thymus und Thyreoidea sei. Dass sie in diesem Falle eines der immer zahlreicher sich erweisenden Glieder der regressiven Stoffmetamorphose sein müsse, lässt sich nach allen gegebenen physiologischen und chemischen Daten wohl nicht bezweifeln: aus welchem Körper sie aber zunächst entstehe, ist gegenwärtig auch nicht einmal annähernd zu bestimmen. Es könnte eben so gut sein, dass sie aus gewissen stickstofffreien Verbindungen durch Oxydationsvorgänge entstände, als es andererseits denkbar wäre, dass sie aus stickstoffhaltigen Körpern durch Spaltung gebildet würde.»

Die von Gorup-Besanez gestellte Frage nach den Muttersubstanzen der im thierischen Organismus gefundenen Bernsteinsäure können wir zur Zeit, nachdem es Gulewitsch und Jachetsohn³⁾ gelungen ist, in der Milz als Produkt des regressiven Stoffwechsels das Arginin mit Hilfe der Methode Kossel's nachzuweisen, wenigstens theilweise beantworten. Denn seit wir die Bernsteinsäure als Oxydationsprodukt des Arginins kennen gelernt haben, dürfen wir zweifellos das während der regressiven Stoffmetamorphose gebildete Arginin als eine Quelle der im Organismus auftretenden Bernsteinsäure ansprechen und somit dieselbe auf den Hexonkern des Eiweissmoleküls zurückführen.

1) Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 98, S. 1 ff.

2) *l. c.*, S. 33.

3) Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 533.